

INSTITUUT VOOR PLANTENZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK

WAGENINGEN, NEDERLAND

DIRECTEUR: Dr. J. G. TEN HOUTEN

MEDEDELING No 246

**DE MATE VAN BESMETTING VAN AARDAPPELKNOLLEN
NA INOCULATIE MET X-VIRUS
OP VERSCHILLENDE AANTALLEN BLADEREN**

**(THE RATE OF TUBER INFECTION AFTER INOCULATING
DIFFERENT NUMBERS OF POTATO LEAVES WITH VIRUS X)**

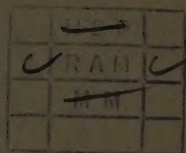
DOOR

A. B. R. BEEMSTER



OVERDRUK UIT:

MEDED. L.H.S. EN OPZ.-STA. V. D. STAAT,
GENT, XXV: 1140-1147, 1960



WEALTH MYCOLOGICAL
11 SEP 1961

INSTITUUT VOOR PLANTENZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK (I.P.O.)

Office and main laboratory:

Binnenhaven 12, tel. 2151, 2152 en 3641
Wageningen, The Netherlands.

Staff:

Director:

Dr. J. G. TEN HOUTEN

Deputy director and head of the Entomological Dept.:

Dr. H. J. DE FLUITER, Wageningen.

Head of the Mycological Dept.:

Ir. J. H. VAN EMDEN, Wageningen.

Head of the Nematological Dept.:

Dr. Ir. J. W. SEINHORST, Wageningen.

Head of the Plant Disease Resistance Dept.:

Dr. J. C. s'JACOB, Wageningen.

Head of the Virological Dept.:

Miss Drs. F. QUAK, Wageningen.

Head of the Section Agricultural Aviation:

Miss M. C. KERSEN, Wageningen.

Head of the Section Biochemical Research and Application of Radioactive Isotopes:

Dr. J. H. VENEKAMP, Wageningen.

Head of the Section Air Pollution Problems:

Ir. F. H. F. G. SPIERINGS, Wageningen.

Research workers at the Wageningen Laboratory:

Dr. Ir. A. B. R. BEEMSTER, Virologist

D. Z. MAAT, Virologist

Ir. J. H. VAN EMDEN, Phytopathologist

F. A. VAN DER MEER, Entomologist

Ir. J. A. DE BOKX, Virologist

Dr. J. C. MOOI, Phytopathologist

Dr. Ir. L. BOS, Virologist

J. P. W. NOORDINK, Radiochemist

Dr. H. H. EVENHUIS, Entomologist

W. C. NIJVELDT, Entomologist

Dr. H. J. DE FLUITER, Entomologist

Ir. H. DEN OUDEN, Nematologist

Dr. C. J. H. FRANSEN, Entomologist

Miss Drs. H. J. PFAELTZER, Virologist

Dr. J. GROSEJAN, Phytopathologist

Ir. A. VAN RAAY, Plantphysiologist

Ir. N. HUBBELING, Phytopathologist and plantbreeder

Miss Drs. F. QUAK, Virologist

Dr. J. C. s'JACOB, Phytopathologist and plantbreeder

Drs. L. E. VAN 't SANT, Entomologist

Miss M. C. KERSEN, Agricultural aviation expert

Dr. Ir. J. W. SEINHORST, Nematologist

Miss Dr. C. H. KLINKENBERG, Nematologist

Dr. H. H. SOL, Virologist

Ir. R. E. LABRUYERE, Phytopathologist

Ir. J. VAN DER SPEK, Phytopathologist

Drs. H. P. MAAS GEESTERANUS, Phytopathologist

Ir. F. H. F. G. SPIERINGS, Plantphysiologist

G. M. TICHELAAR, Phytopathologist

Dr. F. TJALLINGII, Phytopathologist

Ir. E. UBELS, Phytopathologist

Dr. J. H. VENEKAMP, Biochemist

Research workers elsewhere

Drs. J. M. M. v. BAKEL, Phytopathologist } detached to „Proefstation voor de Groenteteelt
Ir. C. KAAI, Nematologist } in de volle grond", Alkmaar, tel. 02200-4568.

Drs. D. J. de JONG, Entomologist } detached to „Proefstation voor de Fruitteelt in de volle
Ir. G. S. ROOSJE, Phytopathologist } grond", Wilhelminadorp, Goes, tel. 01100-2261.

M. VAN DE VRIE, Entomologist

Ir. T. W. LEFFERING, Phytopathologist/Virologist, detached to „Proeftuin Noord Limburg"
Venlo, tel. 04700-2503.

Ir. F. A. HAKKAART, Virologist

Drs. G. SCHOLTEN, Phytopathologist

Dr. K. VERHOEFF, Phytopathologist, detached to „Proeftuin voor de Groente en- Fruitteelt
onder glas", Naaldwijk, tel. 01740-4545.

Guest workers:

Dr. P. A. VAN DER LAAN, Entomologist, „Laboratorium voor toegepaste Entomologie der
Gemeente Universiteit", Amsterdam, tel. 020-56282.

Dr. Ir. G. S. VAN MARLE, Entomologist, Diepenveenseweg 226, Deventer, tel. 06700-3617.

Ir. G. W. ANKERSMIT, Entomologist, „Laboratorium voor Entomologie", Agricultural Uni-
versity, Wageningen, tel. 08370-2438.

Dr. Ir. J. B. M. VAN DINTHIER, Entomologist, „Laboratorium voor Entomologie", Agricul-
tural University, Wageningen, tel. 08370-2438.

Aphidological Adviser:

Mr. D. HILLE RIS LAMBERS, Entomologist, T.N.O., Bennekom, tel. 08379-2458.

DE MATE VAN BESMETTING VAN AARDAPPEL- KNOLLEN NA INOCULATIE MET X-VIRUS OP VERSCHILLENDE AANTALLEN BLADEREN

door

A. B. R. Beemster

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Inleiding

Uit onderzoek, dat over het transport van X-virus in de aardappel werd uitgevoerd, is gebleken, dat de besmetting van de knollen na inoculatie van een der bladeren geleidelijk plaats vindt (Beemster, 1958). Wanneer we dus op een zeker tijdstip na de inoculatie alle knollen van een eenstengelige aardappelplant rooien, treffen we hierbij zowel zieke als gezonde knollen aan. Bovendien blijkt, dat wanneer we een knol in een aantal stukken snijden, zowel zieke als gezonde planten uit één knol kunnen opgroeien. Deze zgn. partiële besmetting komt vooral voor als de plant in een niet te jong stadium werd geïnoculeerd. In het algemeen kan worden gezegd, dat alleen dan de knollen voor 100% kunnen worden besmet, wanneer de inoculatie vóór of omstreeks het tijdstip van het begin van de knolvorming plaats vindt.

We kunnen ons nu afvragen, of de hoeveelheid virus, waarmee wordt geïnoculeerd van invloed is op de mate van knolbesmetting. Uit vroeger onderzoek (Beemster, 1959) is gebleken, dat bij verdunning van het inoculum een vertraging van het virustransport van enkele uren kan optreden. Hierbij ging het echter slechts om de vraag, of er al dan niet virustransport had plaats gevonden. Door nu bij aardappel de totale besmetting van alle knollen te bepalen is het mogelijk, niet alleen van de transport-snelheid, maar ook van de hoeveelheid virus, die wordt getransporteerd, een globale indruk te verkrijgen. In het volgende zullen twee proeven worden besproken, waarin de hoeveelheid geïnoculeerd virus werd gevarieerd door te inoculeren op respectievelijk een, twee en drie bladeren, waarna de knolbesmetting op verschillende tijdstippen werd nagegaan.

Materiaal en methoden

Als proefplanten werden aardappelen gebruikt van het ras Bintje, die in potten werden geteeld bij een temperatuur van 20-24° C en op één stengel waren gehouden. De inoculatie met X-virus (sterk Bintje-X) geschiedde met perssap met behulp van carborundum. Na het rooien werden de knollen van iedere proefplant afzonderlijk in een luchtgekoelde poterbewaarplaats bewaard. Uit vroeger onderzoek (Beemster, 1958) is gebleken, dat tijdens een dergelijke bewaring geen transport van virus in de knol plaats vindt. De nateelt van de planten geschiedde door het poten van een zo groot mogelijk aantal stukken van iedere verkregen knol. Ongeveer vijf weken na het poten werd iedere, uit deze knolstukken opgegroeide plant op de aanwezigheid van X-virus getoetst door uitwrijven van het perssap op *Gomphrena globosa*.

Uitvoering en resultaten der proeven

Proef A

Op 21 juni 1956 werden 45 knollen gepoot, waarna de eruit opgegroeide planten op 1 augustus daaropvolgend werden geïnoculeerd. Hierbij werden 15 planten op vijf blaadjes van het jongste, volkomen ontwikkelde blad geïnoculeerd, 15 planten op vijf blaadjes van de twee jongste, volkomen ontwikkelde bladeren en 15 planten op vijf blaadjes van de drie jongste, volkomen ontwikkelde bladeren. In de gevallen, dat meer dan een blad werd geïnoculeerd vond de inoculatie plaats op bladeren, die opeenvolgend aan de stengel waren bevestigd. Het rooien van vijf planten van elk der bovengenoemde drie groepen vond plaats respectievelijk 5, 10 en 15 dagen na de inoculatie. De nateelt van de planten werd in 1957 getoetst en leverde de in tabel 1 gegeven resultaten op.

Hieruit blijkt, dat vijf dagen na de inoculatie in geen enkele plant transport van virus naar de knollen had plaats gevonden; na tien dagen was dit na inoculatie op een, twee en drie bladeren respectievelijk in een, twee en vijf planten het geval. Hierin zien we dus een zekere evenredigheid met het aantal geïnoculeerde bladeren. Dit is echter niet zo met de cijfers, die het percentage besmette knollen en ogen aangeven (resp. 2, 8 en 40% en 1, 4 en 30%). Als conclusie kan dus wel worden gesteld, dat hoe meer bladeren worden geïnoculeerd, hoe groter kans, dat er knollen worden besmet. Er is echter moeilijk een verklaring te geven voor de relatief hoge besmetting van de knollen na inoculatie van drie bladeren. Het kan zijn, dat het hier een toevallige afwijking betreft, terwijl ook de mogelijkheid bestaat, dat niet alle drie bladeren als gelijkwaardig mogen worden beschouwd.

TABEL 1 — TABLE 1

De besmetting van de knollen van planten na inoculatie op respectievelijk een, twee en drie bladeren op drie verschillende tijdstippen na de inoculatie
 The infection of tubers after inoculation of one, two and three leaves respectively at different intervals after inoculation

Aantal geïnoculeerde bladeren <i>Number of inoc. leaves</i>	Aantal dagen na inoculatie <i>Number of days after inoculation</i>	Infectie per per plant <i>Infection per plant</i>	Infectie per knol <i>Infection per tuber</i>	Infectie per oog <i>Infection per eye</i>
1	5	0/4 ¹	0/29 ^a = 0%	0/ 47 ^a = 0%
	10	1/5	1/46 = 2%	1/116 = 1%
	15	5/5	14/16 = 30%	28/121 = 23%
2	5	0/5	0/41 = 0%	0/ 65 = 0%
	10	2/5	3/39 = 8%	4/101 = 4%
	15	5/5	19/36 = 53%	54/135 = 40%
3	5	0/5	0/36 = 0%	0/ 87 = 0%
	10	5/5	20/42 = 48%	36/120 = 30%
	15	5/5	25/49 = 51%	65/155 = 42%

- 1) teller/noemer : aantal planten met besmette knollen/aantal toetsplanten.
numerator/denominator : number of plants with infected tubers/number of test plants.
- 2) teller/noemer : aantal besmette knollen/aantal getoetste knollen.
numerator/denominator : number of infected tubers/number of tested tubers.
- 3) teller/noemer : aantal besmette ogen/aantal getoetste ogen.
numerator/denominator : number of infected eyes/number of tested eyes.

Bij het bezien van de cijfers, die de besmetting na 15 dagen aangeven, kunnen we allereerst opmerken, dat hier in alle planten transport van virus naar de knollen heeft plaats gevonden. De cijfers over de knol- en oogbesmetting bieden hierdoor een betere basis ter vergelijking. De besmetting blijkt op dit tijdstip na inoculatie op resp. twee en drie bladeren nagenoeg gelijk te zijn en is aanzienlijk hoger dan na inoculatie op één blad. Ook hiervoor zijn verschillende verklaringen mogelijk en wel : 1. De ongelijkwaardigheid van de drie geïnoculeerde bladeren, waarbij gedacht zou kunnen worden, dat het tweede blad inmiddels eveneens een optimaal effect kan hebben gehad, terwijl het derde blad deze periode reeds voorbij is; 2. De mogelijkheid bestaat, dat de besmetting een maximum bereikt, dat afhankelijk is van het blad, dat werd geïnoculeerd, m.a.w. een bepaald blad kan slechts een deel van alle knollen besmetten, nl. alleen die, welke via het floëem hiermede in verbinding staan. Inoculeren we nu twee opeenvolgende bladeren, dan zullen, daar deze bladeren bij aardappel vrijwel tegenoverstaand zijn, verschillende knollen worden bereikt en zal de knolbesmetting twee maal zo hoog zijn. Het derde geïnoculeerde blad heeft verbinding met ongeveer dezelfde knollen

als het eerste blad en inoculatie hiervan leidt uiteindelijk niet tot een hogere besmetting dan inoculatie van de eerste twee. De onder 2 gegeven verklaring behoeft niet te worden gelogenstraft door de resultaten van het rooien na 10 dagen, daar kan worden verondersteld, dat in dit geval elk blad op zichzelf nog niet het optimale effect had teweeggebracht. Deze verklaringsmogelijkheid vereist tenslotte nog de voorwaarde, dat het virus uit een blad niet in andere bladeren terecht komt, waardoor secundaire effecten door andere bladeren op de knolbesmetting zouden kunnen worden veroorzaakt. Aan deze laatste voorwaarde wordt zonder twijfel voldaan bij planten, die in het hier in het geding zijnde stadium van ontwikkeling verkeren ten tijde van de inoculatie, zoals uit vroeger onderzoek hierover kon worden vastgesteld. In 1957 werd de proef herhaald, waarbij bovendien nog een vierde objekt werd toegevoegd. Van deze tweede proef volgt hieronder een beschrijving en bespreking.

Proef B

Op 10 juli 1957 werden 40 knollen gepoot, waarna de eruit opgroeiende planten op 2 september 1957 als volgt werden geïnoculeerd. De planten 1-10, 11-20 en 21-30 werden resp. op een, twee en drie bladeren geïnoculeerd op de wijze, zoals dit bij proef A geschiedde. De planten van de vierde groep (31-40) werden eveneens geïnoculeerd op twee bladeren, maar niet, zoals bij de planten 11-20, op twee bladeren, die opvolgend aan de stengel waren bevestigd, maar op twee bladeren waartussen een blad onbehandeld bleef; dit dus om na te gaan, of in dit geval de inoculatie van twee bladeren aan dezelfde zijde van de stengel hetzelfde resultaat oplevert als inoculatie van slechts één blad. Als dit nl. het geval zou zijn, zou dit een bevestiging kunnen betekenen van de onder 2 in de vorige paragraaf gegeven hypothese.

Het rooien van vijf planten van elke groep geschiedde resp. 14 en 21 dagen na de inoculatie. Opzettelijk werd het rooien op een iets later tijdstip uitgevoerd dan bij proef A om de beginfase (in proef A 5 en 10 dagen na de inoculatie) te ontgaan. De resultaten van proef B zijn gegeven in tabel 2).

Van de resultaten, die in de tabellen 1 en 2 zijn weergegeven, is in fig. 1 een grafische voorstelling gemaakt, die een vergelijking tussen de verschillende objecten der beide proeven mogelijk maakt.

Bij het beschouwen van de resultaten van proef B valt allereerst op, dat de aard der verschillen op de beide rooidata dezelfde is, hetgeen de betrouwbaarheid van de verkregen resultaten verhoogt. Ook valt op, dat de verschillen, die op de eerste rooidatum aanwijsbaar zijn, in het algemeen genomen op de tweede rooidatum

TABEL 2 — TABLE 2

De besmetting van de knollen van planten na inoculatie op respectievelijk een, twee en drie bladeren op twee verschillende tijdstippen na de inoculatie
 The infection of tubers after inoculation of one, two and three leaves respectively at different intervals after inoculation

Aantal geïnoculeerde bladeren Number of inoc. leaves	Aantal dagen na inoculatie Number of days after inoculation	Infectie per plant Infection per plant	Infectie per knol Infection per tuber	Infectie per oog Infection per eye
1	14	3/4 ¹	4/30 ² = 13%	6/128 ³ = 5%
	21	5/5	18/46 = 39%	54/100 = 27%
2 opeenvolgend successive	14	3/5	11/35 = 31%	30/165 = 18%
	21	5/5	16/37 = 43%	61/186 = 33%
3	14	4/5	12/42 = 29%	21/184 = 11%
	21	5/5	16/40 = 40%	30/193 = 16%
2 niet opeenvol. not success.	14	2/5	6/29 = 21%	15/149 = 10%
	21	4/5	13/39 = 33%	34/196 = 17%

1) 2) 3) : zie tabel 1 — see table 1.

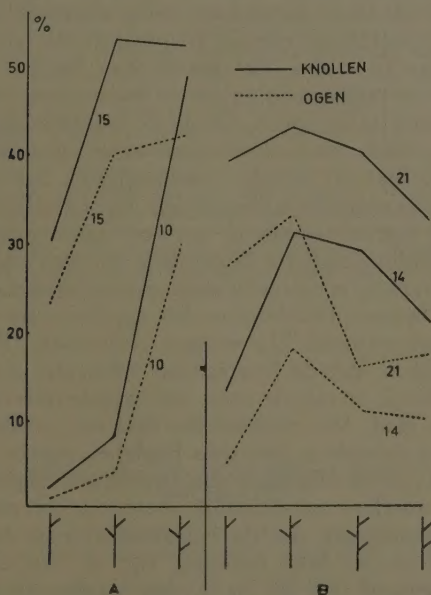


Fig. 1. — De percentages geïnfecteerde knollen en ogen in de proeven A en B (zie ook de tabellen 1 en 2).

Fig. 1. — The percentages of infected tubers and eyes in the experiments A and B. (see tables 1 and 2).

iets kleiner zijn. We zien, dat wat het verloop der knolbesmetting betreft, een volkomen overeenstemming bestaat tussen de resultaten van proef B en die van de laatste rooidatum van proef A. Bij proef B dus in beide gevallen een ongeveer gelijke besmetting na inoculatie op twee en drie opeenvolgende bladeren en een geringere besmetting na inoculatie op één blad. In het objekt, waarin twee niet opeenvolgende bladeren werden geïnoculeerd, zien we weer een besmetting, die aanzienlijk lager ligt dan na inoculatie op twee en drie opeenvolgende bladeren. Dit is dus inderdaad in overeenstemming met de gedachte, dat in het vierde objekt het tweede geïnoculeerde blad geen extra bijdrage tot de knolbesmetting kan leveren, daar de twee geïnoculeerde bladeren voor een belangrijk deel in verbinding staan met dezelfde knollen en daardoor dus uiteindelijk een besmetting van precies dezelfde knollen tot stand brengen. Er dient op te worden gewezen, dat vooral de gegevens over de knolbesmetting (en dus niet die van de ogen) voor de bovenvermelde hypothese van belang zijn, daar de positie van de knollen en in het algemeen gesproken niet die van de ogen hierbij essentieel is. De cijfers over de besmetting van de ogen geven meer een kwantitatief beeld van de totale hoeveelheid getransporteerd virus. In proef A vertoonden de beide lijnen (zie fig. 1) van de knol- en oogbesmetting ongeveer hetzelfde verloop op een verschillend niveau. In proef B zijn echter onregelmatigheden aan te wijzen. Het betreft hier het feit, dat de percentages, die de oogbesmetting in de laatste twee objekten aangeven, aanzienlijk lager liggen dan uit de knolbesmetting verwacht had mogen worden. Hoewel hier een toevallige afwijking in het spel kan zijn, lijkt dit minder waarschijnlijk, daar dezelfde afwijking op beide rooidata is opgetreden. Het verschijnsel doet zich dus voor, dat hoewel inoculatie van twee opeenvolgende en drie bladeren aanleiding geeft tot besmetting van een ongeveer gelijke hoeveelheid knollen, er na inoculatie van drie bladeren veel minder ogen worden besmet. Dit duidt er dus op, dat in dit geval minder virus is getransporteerd. Uit vroeger onderzoek (Beemster, 1958) is gebleken, dat de hoeveelheid virus, die getransporteerd wordt, afhankelijk is van de mate van virusvermeerdering in het geïnoculeerde blad. We moeten dus naar een verklaring zoeken, waarom er na inoculatie van drie bladeren minder virus wordt geproduceerd dan na inoculatie van twee opeenvolgende bladeren. Dit nu is niet zonder meer duidelijk, maar zou toch niet onmogelijk zijn als we aannemen, dat de bouwstoffen voor het virus niet ongelimiteerd in het blad aanwezig zijn en van elders moeten worden aangevoerd. Als dit zo is, dan zouden de drie bladeren elkaar, wat deze aanvoer betreft concurrentie aandoen en zou de virusvermeerdering in elk van de drie bladeren aanzienlijk minder zijn dan wanneer een of twee bladeren zijn geïnoculeerd. Te

sterker zou dit gelden voor het geval de desbetreffende bladeren weer boven elkaar aan de stengel zijn bevestigd, gezien de aanvoer dan weer plaats zou moeten vinden langs dezelfde transportbanen. Deze laatste veronderstelling stemt met de feiten overeen, daar de beide laatste objecten beide een oogbesmetting te zien geven, die lager is dan verwacht had mogen worden. Er rest nu nog de vraag, waarom dit verschijnsel niet in proef A tot uiting kwam. De inoculatie bij proef A geschiedde in een jonger stadium dan bij proef B (resp. 40 en 54 dagen oude planten), waardoor de virusvermeerdering bij A op een hoger niveau lag en deze nog niet beperkend werkte op de oogbesmetting, hetgeen ook hieruit blijkt, dat bij proef A in korter tijd een hoger percentage besmetting werd verkregen dan bij proef B.

SAMENVATTING

Een tweetal proeven wordt beschreven, waarin werd nagegaan of er verschillen optreden in de knolbesmetting bij aardappelen na inoculatie met X-virus van een, twee en drie bladeren. Hieruit is gebleken, dat de besmetting van de knollen niet evenredig is met het aantal geïnoculeerde bladeren. De verkregen gegevens wettigen de conclusie, dat bij inoculatie van meer dan één blad de positie van de geïnoculeerde bladeren aan de stengel ten opzichte van elkaar van betekenis is voor de mate van knolbesmetting. Worden nl. twee bladeren geïnoculeerd aan één zijde van de stengel, dan levert het tweede blad geen extra bijdrage aan het totale aantal geïnfecteerde knollen. De indruk wordt verkregen, dat bij het inoculeren van oudere planten een verminderde totale oogbesmetting wordt verkregen na inoculatie op meer dan één blad, indien deze aan dezelfde zijde van de stengel zijn bevestigd. Deze zou veroorzaakt kunnen worden door onderlinge concurrentie. Zijn twee geïnoculeerde bladeren opeenvolgend aan de stengel bevestigd, dan werken deze beide wel ieder afzonderlijk en leveren elk een ongeveer gelijke bijdrage aan de totale knolbesmetting, terwijl ook de totale oogbesmetting in dit geval ongeveer evenredig toeneemt. Deze feiten kunnen worden verklaard door aan te nemen, dat in het eerste geval de betrokken bladeren aan dezelfde floëmbundels zijn aangesloten en in het tweede geval juist geheel verschillende floëmbundels met de geïnoculeerde bladeren in verbinding staan.

SUMMARY

The rate of tuber infection after inoculating different numbers of potato leaves with virus X.

1. Inoculating one, two and three leaves respectively of a potato plant with virus X generally does not lead to an infection of the tubers in the ratio 1 : 2 : 3.
2. The results suggest that inoculation of one leaf leads to a considerably smaller percentage of tuber infection than inoculation of two or three successive leaves, the latter two treatments giving about equal rates of tuber infection.
3. However, when of three successive leaves the middle one is not inoculated, the rate of infection is about the same as that after inoculation of only one leaf.

4. These results can best be explained by assuming that when two leaves opposite to each other on the stem are inoculated, the virus can move into more tubers than when the two leaves are situated on the same side of the stem as is the case when of three successive leaves only the outer two are inoculated.
5. The rate of infection of the eyes suggests that with regard to virus synthesis in inoculated leaves a sort of competition may exist if the leaves are on the same side of the stem. Possibly the flow of substances needed for the formation of virus must then be divided between the leaves. Consequently the rate of virus multiplication in and translocation from each leaf does not reach an optimum. This may only be the case in rather old plants.

LITERATUUR

- BEEMSTER, A. B. R. — (1958). Transport van X-virus in de aardappel (*Solanum tuberosum* L.) bij primaire infectie. *Tijdschr. Plantenziekten* **64**, 165-262.
- BEEMSTER, A. B. R. — (1959). The translocation of some viruses in *Physalis floridana* RYDB. *Proc. IVth. Intern. Congr. Crop Prot. Hamburg*, Vol. **I**, 297-301.

